

# Разработка концепта универсальной люминесцентной насадки для оптического микроскопа

Е. Ф. Федорук

Санкт-Петербургский государственный электротехнический университет  
«ЛЭТИ» им. В.И. Ульянова (Ленина)

fedoruk.elen@gmail.com

**Аннотация.** Люминесцентная микроскопия незаменима при гистологических исследованиях в биологии и медицине, а также смежных областях. Позволяет проводить точные исследования клеток и тканей организмов в видимом и ультрафиолетовом спектре. Создание универсальной насадки, подходящей для большинства оптических микроскопов, снизит затраты на исследования в области люминесцентной микроскопии. Особенность такой насадки в том, что конструкция представляет собой специальную осветительную систему, которая излучает свет необходимых длин волн, вызывающий соответствующее свечение объектов.

**Ключевые слова:** люминесцентная микроскопия, оптический микроскоп, ультрафиолетовый спектр, осветительная система

## I. ВВЕДЕНИЕ

Микроскопы для люминесцентной микроскопии, необходимы для анализа кровяных клеток костного мозга, диагностики инфекционных болезней, исследования клеток организма и глазных тканей сетчатки. Люминесцентный микроскоп в среднем стоит дороже, чем стандартный оптический. Чтобы сократить затраты на исследование предлагается разработать насадку для оптического микроскопа, которая позволит проводить люминесцентные исследования.

Основное различие между флуоресцентным и оптическим микроскопами – это источник света и фильтрационный модуль. Для достижения люминесцентного эффекта необходимо использовать специальное освещение с определённой длиной волны [1]. Для последующего отделения отраженного света от общего потока используются специальный светофильтры, которые пропускают только длины волн, излучаемые флуорофором, и блокирует другой нежелательный свет с обеих сторон.

## II. ПРЕДЛАГАЕМАЯ КОНЦЕПЦИЯ

Существует разработка гиперспектральной насадки, содержащая корпус, выполненный с возможностью установки на входе видеовыхода штатного микроскопа. Внутри корпуса последовательно установлены светоделительный кубик, с возможностью подачи части падающего оптического излучения на фотоприемную

матрицу, а остальной части на щель, за которой последовательно установлены коллиматор, призма, проекционный объектив и приемная матрица гиперспектрометра. [2] Также известно применение флуоресцентной насадки для использования на смартфоне. [3]

Для получения флуоресцентного свечения на объекте, необходима высокая пиковая мощность в интересующей нас зоне спектра (рис. 1). Предполагается использовать светодиодные источники света, которые являются универсальными, малогабаритными и не требовательны к источнику питания.

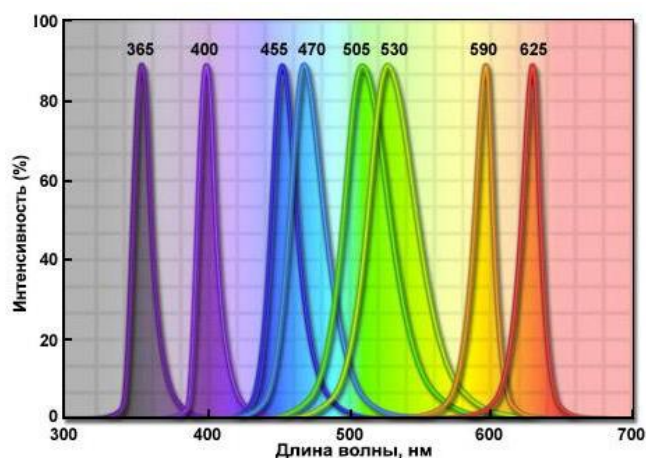


Рис. 1. Спектральная характеристика светодиодов, использующихся в световой микроскопии

Для исследования нуклеиновых кислот, применяются специфически окрашивающие красители. Нуклеиновые кислоты окрашивает бромистый этидий, дающий красную флуоресценцию с длиной волны 605 нм при возбуждении светом с длиной волны 518 нм.

При выполнении флуоресцентной микроскопии для локализации липидов тканей используется, например, фосфин 3R. В результате получается серебристо-белая флуоресценция липидов при источнике света с длиной волны 465 нм.

Флуоресценция солей кальция в костях происходит при воздействии излучением с длиной волны 390–425 нм с использованием тетрациклина для окрашивания, а с

применением проциона желтого M4RS можно окрасить нервные клетки и при возбуждении излучением длиной волны 470 нм получить флуоресценцию 600 нм. [4]

Фильтрация излучаемого свечения происходит с помощью фильтрационного блока, в составе которого фильтр возбуждения и эмиссионный, дихроичное зеркало. [5]

Разрабатываемая конструкция представлена в виде круговой насадки с светодиодным источником света соответствующей длиной волны, которая возбуждает флуорофор (рис. 2). Для покрытия, рассматриваемого в флуоресцентной микроскопии спектра длин волн, можно воспользоваться светодиодами с длинами волн в нм: 385, 430, 475, 525, 575, 630.

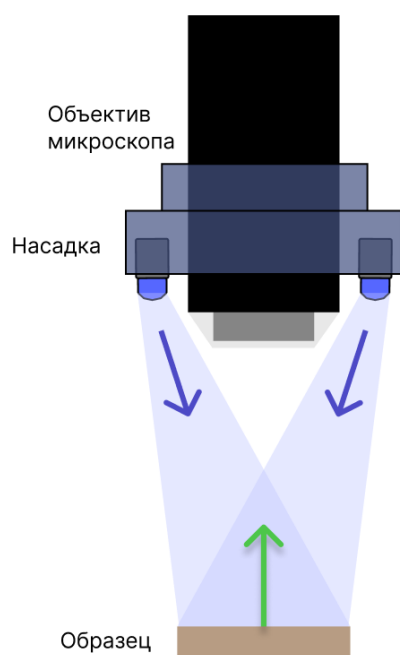


Рис. 1. Схематичное изображение работы насадки

Источник света в форме круга с расположенными по краям светодиодами, питаемыми через USB-кабель от ПК (рис. 3). Для управления освещением насадки можно будет применить специально приложение для смартфона или ПК, где есть возможность изменить длину волны и интенсивность излучения.

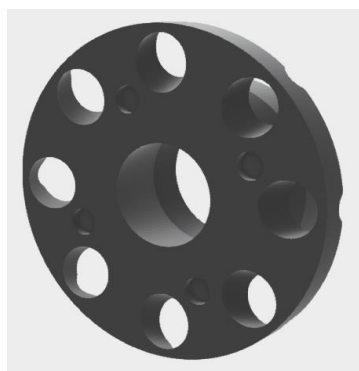


Рис. 2. Крепление для светодиодов

Насадка крепится к объективу с помощью конструкции, благодаря которой возможно регулировать крепление и существует возможность адаптировать под различные размеры объективов, для оптических микроскопов примерный диаметр варьируется от 23 до 26 мм (рис. 4). Однако стоит учитывать рабочее расстояние (от покровного стекла микропрепарата до нижней части объектива) или рассматривать вариант использования с моделями, у которых есть настройка расстояния.

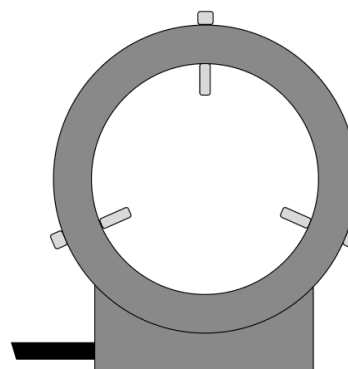


Рис. 3. Крепление для светодиодов

Эффективность разделения и регистрации длин волн возбуждения и испускания достигается во флуоресцентной микроскопии правильным выбором светофильтров, блокирующих или, наоборот, пропускающих свет определённых длин волн. В конструкции предполагается использование легко сменяемых фильтров, расположенных перед системой приема сигнала.

### III. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На сегодняшний день недостаточно информации об флуоресцентных насадках для стандартного оптического микроскопа. У флуоресцентных микроскопов из-за особенностей устройства есть возможность применения сменных блоков фильтров, если рассматривать конструкцию можно найти пути улучшения для увеличения качества полученного изображения.

Для флуоресцентной микроскопии желательное использование специализированного программного обеспечения, так как изначально полученное изображение черно-белое и если есть потребность в исследовании нескольких объектов, то необходимо окрашивание с помощью ПО.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- [1] Балалаева И.В., Сергеева Е.А., Катичев А.Р. Оптическая микроскопия в исследовании структуры и функций биологических объектов. Часть 1. Широкопольная оптическая микроскопия: Уч.-метод. Пособие. Нижний Новгород: Нижегород. гос. ун-т. 2012.
- [2] Сорокина-Аксеновская М.П. и др. Гиперспектральная насадка для оптического микроскопа. 2020.
- [3] Dai B. et al. Colour compound lenses for a portable fluorescence microscope //Light: Science & Applications. 2019. Т. 8. №. 1. С. 75.
- [4] Сайфитдинова А.Ф. Двумерная флуоресцентная микроскопия для анализа биологических образцов. СПб.: Соло-2008. 2011.
- [5] Microbial Life - Educational Resources [Электронный ресурс] URL: [https://serc.carleton.edu/microbelife/research\\_methods/microscopy/fl\\_uomic.html](https://serc.carleton.edu/microbelife/research_methods/microscopy/fl_uomic.html)